

1B06

温度応答性高分子へのアニオン吸着挙動に対する共存巨大分子の混み合い効果：ランダムコイル-グロビュール転移への影響

(九大院理) ○迫田憲治, 田端大樹, 関谷博

Macromolecular crowding effect on the adsorption of anions to thermoresponsive polymer: its influence on the random coil-globule transition

(Kyushu Univ.) Kenji Sakota, Daiki Tabata, Hiroshi Sekiya

【序論】タンパク質の折り畳みや酵素反応などに関する理解の殆どは、希薄な濃度領域で行われた実験結果に基づいている。しかしながら、細胞内はタンパク質や核酸などの生体高分子で極端に混み合っており、その濃度は 50~400 mg/ml にも達している。生体高分子の混み合い効果は、生化学反応の速度や平衡に重大な影響を与えることが分かっており、細胞内での生化学過程を真に理解するためには、生体高分子の混み合いによる効果を見捨てるわけにはいかない。

ところで、タンパク質水溶液に塩を添加すると、塩析や塩溶が起こることが古くから知られている。今から 100 年以上前、Hofmeister はタンパク質の溶解度に対する塩添加の効果を系統的にしらべ、塩の種類によってその効果が大きく異なることを見出した。現在では Hofmeister 系列として知られている塩添加効果の序列は、タンパク質の溶解だけでなく、多くの物理化学的過程、例えば、界面活性剤の相転移や疎水性分子の溶解度などに対しても成り立つことが知られている。しかしながら、Hofmeister 系列の物理的な起源に関しては、いまだに不明な点が多い。

本研究では、巨大分子の混み合い環境下における塩の添加効果に注目した。温度応答性高分子の 1 つであるポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) の水溶液は、31°C 付近で下部臨界共溶温度 (LCST) を示すことが知られており、31°C よりも低温側では高分子鎖が広がったランダムコイル状態、高温側ではコンパクトなグロビュール状態になっている (図 1)。PNIPAM におけるランダムコイル-グロビュール転移は、タンパク質の折り畳みや低温変性のモデル系としても注目されており、非常に多くの研究が行われている。そこで今回は、共存巨大分子の混み合いによって、PNIPAM のコイル-グロビュール転移に対する塩添加効果がどのような影響を受けるのかに注目して研究を行った。

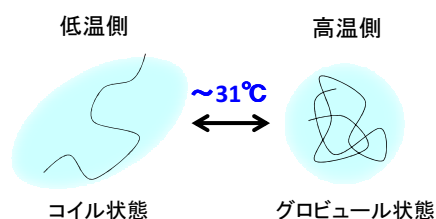


図1 PNIPAMのコイル-グロビュール転移

【実験手法】PNIPAM 水溶液にレーザーを照射しながら水溶液の温度を変化させると、LCST において水溶液からの散乱光強度が増大する。このことを利用して、PNIPAM 水溶液に混み合い分子 (ポリエチレングリコール [PEG]), NaCl および NaSCN を添加したときの LCST を測定した。

【結果および考察】PNIPAM 水溶液および PNIPAM 水溶液に 300 mg/ml の PEG を加えたときの散乱光強度の測定から、PNIPAM 水溶液では 30.9°C、PEG を加えた PNIPAM 水溶液では 17.0°C でコイル-グロビュール転移が生じていることが分かった。つぎに、PNIPAM のコイル-グロビュール転移に対する塩添加効果を調べた。図 2 の横軸は NaCl もしくは NaSCN の濃度、縦軸は塩を加えていないときと塩を加えたときの転移温度差 (ΔT_{cp}) を表わしている。NaCl の場合、混み合い分子の有無によらず、塩濃度が増加するに従って転移温度が同じように低下している (図 2(a))。この結果は、NaCl と混み合い分子の添加効果が、ほぼ独立していることを意味する。一方、NaSCN

の場合、転移温度曲線が混み合い分子の有無によって、その形を大きく変えることが分かった (図 2(b)).

PEG を添加していない PNIPAM 水溶液に対する塩添加効果は, Cremer らによって詳しく調べられており, 転移温度曲線は以下の式で再現できることが明らかにされている.

$$\Delta T_{cp} = c[M] + B_{\max}[M]e^{-b[M]}/(K_D + [M]e^{-b[M]}) \quad (1)$$

ここで, $[M]$ は塩の濃度である. 式(1)の第 1 項は, 転移温度が塩濃度に対して線形に変化する効果を表わしている. 一方, 第 2 項は, Langmuir 型の吸着曲線と同じ形をしており, PNIPAM にアニオンが吸着することによる転移温度の変化を表わしている. ここで, K_D は PNIPAM とアニオンの解離平衡定数, B_{\max} はアニオンの吸着率を転移温度変化に変換する係数 (正の場合は温度上昇) となっている. 式(1)を用い

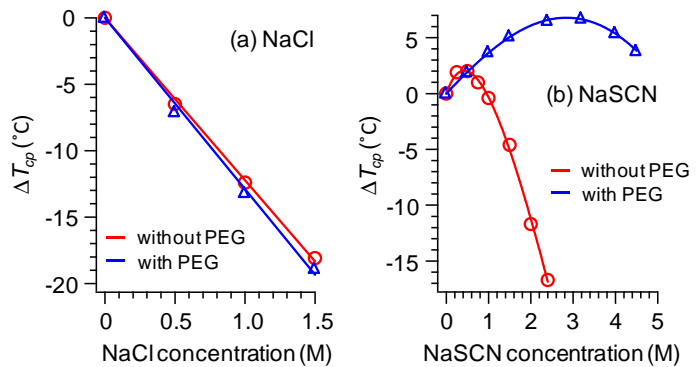


図2 塩濃度に対するPNIPAMの転移温度曲線. ○, △は実験データ. 実線は式(1)のフィッティング結果.

て図 2 の NaSCN の実験データをフィッティングした結果, PEG の有無によらず B_{\max} は正の値をとるが, PEG の添加によって B_{\max} は 4.5 倍に増大することが分かった. よって, 混み合い環境下で PNIPAM に吸着した SCN は, より大きな転移温度の上昇を引き起こす. また, 混み合い分子を添加した PNIPAM 水溶液の比誘電率を測定したところ, 水に比べて比誘電率が約 35%低下していることがわかった.

木下らは, 分子性流体用積分方程式理論と形態熱力学的アプローチを組み合わせることによって, タンパク質の折り畳みの駆動力が, 折り畳みに伴うタンパク質周囲の排除体積の減少による水の並進エントロピー利得にあることを明らかにした. PNIPAM が示すコイル-グロブユール転移の駆動力に関しては, まだはっきりとしたことが分かってないが, 木下らの研究を参考にする, その駆動力が排除体積効果に起因する水の並進エントロピー利得にある可能性が高い. これを作業仮設して採用すると, B_{\max} が正の値をとる理由, 及び, 混み合い環境において B_{\max} が約 4.5 倍に増大する理由は次のように考えられる. PNIPAM のコイル-グロブユール転移に伴って排除体積の減少と水の並進エントロピー利得が生じるが, SCN が PNIPAM に吸着している場合は, 転移に際して SCN 同士の静電反発も生じる. この場合, 静電反発を出来るだけ避けつつ排除体積を小さくしようとするので, SCN が吸着していない (=静電反発がない) 場合と比べて排除体積の減少幅は小さくなり, 並進エントロピー利得も小さくなる. この並進エントロピー損失は, 転移温度を上昇させることによって補償することが可能であるため, 吸着率と転移温度変化の変換係数である B_{\max} は正の値となる. また, 混み合い環境では, 溶液の比誘電率が低いため, SCN 同士の静電反発が更に強まる. このため, 転移に伴う排除体積の減少幅は更に小さくなることから, 並進エントロピー損失が更に大きくなり, 転移温度の上昇幅が大きくなる. すなわち, 混み合い環境での B_{\max} は更に大きくなると考えられる.

当日は, 紙面の都合で議論出来なかった点も含めて発表する.